

[Title of the Invention] Particulate sorting microchip and particulate sorting device

[Abstract]

[Problem] To present a method of sorting particulates such as cells easily and at high precision, and an inexpensive and highly versatile particulate sorting device.

[Solving Means] A particulate sorting microchip comprising at least a particulate containing solution feeding passage formed on a substrate, a sheath flow forming passage disposed at least at one side of the feeding passage, a particulate measuring position for measuring the introduced particulates, two or more particulate sorting passages for sorting and collecting particulates disposed at the downstream side of the particulate measuring position, and two or more electrodes for controlling the moving direction of particulates disposed near the passage inlet from the particulate measuring position to the particulate sorting passage.

[Claims]

1. A particulate sorting microchip, being a flow type particulate sorting microchip having fine passages on a substrate: comprising at least a particulate containing solution feeding passage formed on the substrate,

a sheath flow forming passage disposed at least at one side of the feeding passage, a particulate measuring position for measuring the introduced particulates, two or more particulate sorting passages for sorting and collecting particulates disposed at the downstream side of the particulate measuring position, and two or more electrodes for controlling the moving direction of particulates disposed near the passage inlet from the particulate measuring position to the particulate sorting passage.

2. The particulate sorting microchip of claim 1, wherein the particulate measuring position is one passage for allowing to flow the particulate containing solution and sheath flow forming solution.

3. The particulate sorting microchip of claim 1 or 2, wherein the particulate containing solution feeding passage, sheath flow forming passage, particulate measuring position, and inner wall of sorting passage are coated with a particulate adhesion preventive layer.

4. The particulate sorting microchip of any one of claims 1 to 3, wherein the electrodes are shaped and/or disposed so that the electric field may be concentrated near the particulate sorting passage.

5. The particulate sorting microchip of any one of claims 1 to 4, wherein particulates in the particulate containing solution are selected from the group consisting of cells, bacteria, microorganisms, and high molecular particulates.

6. A particulate sorting device for sorting particulates, comprising at least one of particulate sorting microchips in claims 1 to 5,

measuring means for measuring optically or electromagnetically the particulates at the particulate measuring position on the particulate sorting microchip,

voltage applying means for applying a voltage to the electrodes on the particulate sorting microchip, and

output means for issuing optical or electrical information of particulates.

7. The particulate sorting device of claim 6, wherein the measuring means is an optical microscope.

8. The particulate sorting device of claim 6, wherein the measuring means is a fluorescent microscope.

9. A particulate sorting method for sorting particulates by using any one of the particulate sorting devices in claims 6 to 8.

10. A particulate sorting method characterized by feeding a solution containing particulates through a feeding passage, forming a sheath flow to feed the particulates into a measuring position, measuring the particulates, and guiding the particulates into the particulate sorting passage and sorting by interaction of electric field generated by

application of voltage and particulates.

11. The sorting method of claim 9 or 10, wherein the particulates to be sorted are selected from the group consisting of cells, bacteria, microorganisms, and high molecular particulates.

[Detailed Description of the Invention]

[Technical Field of the Invention]

The present invention relates to a particulate sorting chip. More particularly, the invention relates to a microchip for sorting particulates or cells, a particulate sorting device incorporating it, and a method of sorting particulates and cells.

[Prior Art and Its Problems]

By the development of fine processing technology in semiconductor industry, microchips manufactured on silicon or glass substrates have come to be used widely in analytical apparatuses. Specifically, various microchips composing electrodes or passages on silicon or glass substrates are used in electrochemical detectors in liquid chromatography or small-sized electrochemical sensors in medical field.

Recently, for the purpose of higher speed, higher efficiency, and higher degree of integration of chemical experiments, and downsizing of analytical apparatuses, micro-total-analysis system (μ -TAS), and micro-reactor are manufactured and developed, and intensive researches are promoted globally.

These μ -TAS devices can measure and analyze by using a small amount of sample, and are portable, inexpensive, and disposable, and as compared with conventional devices, they are evaluated in many aspects, and specifically evaluated to be highly useful in experiments using expensive reagents, or in screening operation of biochemical materials of small amount and multiple types.

The μ -TAS is also expected to be capable of unveiling specific molecular behavior in micro space, and isolating and analyzing single molecule, signal particulate, or single cell by applying superhigh sensitivity detection and infinitesimal analysis.

On the other hand, while a tremendous amount of gene information is being disclosed in the human genome project, there is a mounting importance in screening technology of large quantity and wide variety in pharmaceutical field of genome medicines and the like. For example, when evaluating effects of specific substance on human cells, a library of organ culture cell is prepared, and culture cells are isolated and refined to control the quality, and cells are sorted and observed after administration of substance.

Hitherto, for sorting of such cells, cell or particulate sorting devices known as cell sorter or particle analyzer have been used. However, a conventional cell sorter was large and expensive, and it was not a handy tool to be used in the laboratory or medical field. Technically, since the cell is sorted on the basis of indirect information such as scattered light or fluorescent light, the operation required skill and experience, and it was not versatile. In the cell sorter, moreover, since the sorted cell must be formed into liquid drop, and the size and type of applicable cells were limited. On the other hand, the particle analyzer is known as the device capable of sorting powder, cell or other particulates depending on the size or shape, but it is also expensive, and is not versatile because the cell is sorted on the basis of indirect measured information.

Lately, an inexpensive cell sorter has been developed, which is capable of sorting particulates in a laminar flow while directly observing by a microscope (Micro Total Analysis '98, pp. 77-80 (Kluwer Academic Publishers, 1998); Analytical Chemistry, 70, pp. 1909-1915 (1998)), but actually only the key technology of the isolating section has been developed, and the entire device is in the process of development.

The invention is devised in the light of the above background, and it is hence an object thereof to solve the problems of the prior art, and present a method of sorting cells and other particulates easily and at high precision, and an inexpensive and highly versatile particulate sorting device.

[Means for Solving the Problems]

To solve the problems, it is hence a first aspect of the invention to present a

particulate sorting microchip, being a flow type particulate sorting microchip having fine passages on a substrate, comprising at least a particulate containing solution feeding passage formed on the substrate, a sheath flow forming passage disposed at least at one side of the feeding passage, a particulate measuring position for measuring the introduced particulates, two or more particulate sorting passages for sorting and collecting particulates disposed at the downstream side of the particulate measuring position, and two or more electrodes for controlling the moving direction of particulates disposed near the passage inlet from the particulate measuring position to the particulate sorting passage.

It is a second aspect of the invention to present a particulate sorting microchip, in which the particulate measuring position is one passage for allowing to flow the particulate containing solution and sheath flow forming solution.

It is a third aspect of the invention to present any one of the above mentioned particulate sorting microchips, in which the particulate containing solution feeding passage, sheath flow forming passage, particulate measuring position, and inner wall of sorting passage are coated with a particulate adhesion preventive layer.

It is a fourth aspect of the invention to present any one of the above mentioned particulate sorting microchips, in which the electrodes are shaped and/or disposed so that the electric field may be concentrated near the particulate sorting passage.

It is a fifth aspect of the invention to present any one of the above mentioned particulate sorting microchips, in which particulates in the particulate containing solution are selected from the group consisting of cells, bacteria, microorganisms, and high molecular particulates.

It is a sixth aspect of the invention to present a particulate sorting device for sorting particulates, comprising at least any one of the above mentioned particulate sorting microchips, measuring means for measuring optically or electromagnetically the particulates at the particulate measuring position on the particulate sorting microchip, voltage applying means for applying a voltage to the electrodes on the particulate sorting

microchip, and output means for issuing optical or electrical information of particulates.

It is a seventh aspect of the invention to present the above mentioned particulate sorting device, in which the measuring means is an optical microscope, and it is an eighth aspect of the invention to present any one of the above mentioned particulate sorting devices, in which the measuring means is a fluorescent microscope.

It is a ninth aspect of the invention to present any one of the above mentioned particulate sorting methods for sorting particulates by using any one of those particulate sorting devices.

It is a tenth aspect of the invention to present a particulate sorting method characterized by feeding a solution containing particulates through a feeding passage, forming a sheath flow to feed the particulates into a measuring position, measuring the particulates, and guiding the particulates into the particulate sorting passage and sorting by interaction of electric field generated by application of voltage and particulates.

It is an eleventh aspect of the invention to present any one of the above mentioned sorting methods, in which the particulates to be sorted are selected from the group consisting of cells, bacteria, microorganisms, and high molecular particulates.

[Embodiments of the Invention]

The invention, first of all, relates to a flow type particulate sorting microchip having fine passages on a substrate. An outline of the particulate sorting microchip is shown in Fig. 1. The particulate sorting microchip of the invention comprises, on a substrate (1), at least (a) a particulate containing solution feeding passage (2), (b) a sheath flow forming passage (3) disposed at one side of the feeding passage, (c) a particulate measuring position (4) for measuring the introduced particulates, (d) two or more particulate sorting passages (5) for sorting and collecting particulates disposed at the downstream side of the particulate measuring position (4), and (e) two or more electrodes (6) for controlling the moving direction of particulates disposed near the passage inlet (51) from the particulate measuring position (4) to the particulate sorting passage (5). At this

time, the substrate (1) is not particularly specified as far as fine passages and electrodes can be processed and installed by various fine processing technologies, and its material may be selected from silicon, glass, quartz, plastic, and others. For example, when measuring the particulates by optical means, it is desired to select a material not having absorption in the wavelength region of the light source to be used. The size of the substrate (1) is not specifically limited, and at least it may be large enough for allowing to process the components (a) to (e) depending on the size and type of cells and particulates to be sorted.

In the particulate sorting microchip of the invention, the particulate containing solution feeding passage (2) is a passage for feeding a solution containing sample particulates (7) such as culture cell, blood cell, and high molecular particulate, and its upstream side may include a connector position for liquid feeding means, such as tank or pump for storing the particulate containing solution. In such microchip, the inside diameter of the particulate containing solution feeding passage (2) is not particularly specified. At least the diameter may be large enough for feeding the sample particulates (7) stably. For example, the width is about 1 to 100 μm . The shape is not particularly specified, and if rectangular, it may be easily formed by known semiconductor fine processing technology, and it is preferable because the image is not distorted at the time of microscopic observation described later.

The sheath flow forming passage (3) is a passage for feeding liquid (sheath liquid) for forming a flow (sheath flow) for enveloping both sides of the sample particulates (7) when sample particulates (7) are fed into the particulate measuring position (4), and it may be disposed at one side or both sides of the particulate containing solution feeding passage (2). The inside diameter of the sheath flow forming passage (3) is not particularly specified, but the width may be, for example, 1 to 100 μm . In order to form the sheath flow, the diameter of particulate containing solution feeding passage (2) and sheath flow forming passage (3) is designed, or the flow rate of particulate containing

solution and the flow rate of sheath solution are adjusted.

In the particulate sorting microchip of the invention, the particulate measuring position (4) is a position for measuring the particulate optically or electromagnetically. More specifically, light of specific wavelength region is emitted to the sample particulate (7) from an observing optical measuring system, and a stereoscopic image or fluoroscopic image of the sample particulate (7) is observed. Or the position may be also used for observing the moving speed or migrating speed of sample particulate (7) by CCD camera or the like. Further, two or more sets of micro electrodes may be assembled in the particulate measuring position (4), and a low alternating-current voltage of about 100 mV is applied between electrodes, and an impedance flowing between electrodes may be measured. In such particulate measuring position (4), each solution flowed from the particulate containing solution feeding passage (2) and sheath flow forming passage (3) to introduce the sample particulate. Thus, the particulate measuring position (4) is preferred to form one passage combining the particulate containing solution feeding passage (2) and sheath flow forming passage (3), and a larger diameter is desired, for example, the width may be about 5 to 150 μm . The height of each passage is not particularly specified. However, the distance (thickness) from the bottom or top of the chip to the passage should be limited to about 50 to 500 μm in relation to the focal length of the lens when observing the fine structure in the particulate or cell by microscope.

The particulate sorting microchip of the invention further comprises two or more particulate sorting passages (5) for sorting and collecting particulates disposed at the downstream side of the particulate measuring position (4). Such particulate sorting passages (5) can be increased in number depending on the types of particulates to be sorted. The particulate sorting passages (5) may include one or more passages for waste liquid.

The particulate containing solution feeding passage (2), sheath flow forming passage (3), particulate measuring position (4), and sorting passage (5) may be used

directly after processing the substrate (1) by semiconductor fine processing technology such as photolithography, but some of the sample particulates are likely to stick to the inner wall of the passages, and a large difference may be cause in the moving speed of particulates between the wall side and middle of the passage, and it is hence preferred to form a particulate adhesion preventive layer. Specifically, a particular adhesion preventive layer may be formed by coating with high molecules of gelatin or polyethylene glycol or the like.

The particulate sorting microchip of the invention further comprises two or more electrodes (6) for controlling the moving direction of particulates disposed near the passage inlet (51) from the particulate measuring position (4) to the particulate sorting passage (5). Such electrodes (6) apply voltage, and generate an electric field near the passage inlet (51), and control the flow of particulates into the passage inlet (51) by interaction of electric field and particulates. The shape and size of electrodes (6) are not particularly specified, but an acute shape as shown in Fig. 1 is preferred so as to concentrate the electric field near the passage inlet (51) and maximize the gradient of nonuniform electric field. The material of electrodes (6) may be properly selected from general electrode materials such as gold, silver, platinum, and Al. The number of electrodes (6) is required to be at least one pair (two) in order to generate an electric field, but it can be increased depending on the number of particulate sorting passages (5). When application of voltage to the electrodes (6) can be controlled individually, flow into each passage inlet (51) can be allowed or prohibited individually.

Thus, the particulate sorting microchip may be manufactured in any method, and can be easily manufactured by any known fine processing technology such as semiconductor lithography or etching.

The invention further presents a particulate sorting device capable of sorting particulates. The particulate sorting device comprises at least (i) the particulate sorting microchip, (ii) measuring means for measuring optically or electromagnetically the

particulates at the particulate measuring position on the particulate sorting microchip, (iii) voltage applying means for applying a voltage to the electrodes on the particulate sorting microchip, and (iv) output means for issuing optical or electrical information of particulates.

In the particulate sorting device of the invention, the measuring means for measuring optically or electromagnetically the particulates at the particulate measuring position on the particulate sorting microchip is, for example, the microscopic optical observing system or CCD camera. When using the microscopic optical measuring system, by emitting light of specific wavelength region to the sample particulate (7), and a stereoscopic image of the sample particulate (7) can be observed at the same wavelength as the emitted light. Or, a fluoroscopic image of the sample particulate (7) may be observed in longer wavelength region, and it may also include a function for comparing the stereoscopic image and fluoroscopic image or an image processing function. When the CCD camera is used as the measuring means, the moving speed or migrating speed of the sample particulate (7) may be observed. Accordingly, effects of voltage application on migrating speed of sample particulate (7) may be measured, or the separation timing may be determined. But other measuring means may be used, for example, means for emitting semiconductor laser and measuring transmitted light by photo diode.

In the particulate sorting device of the invention, the voltage applying means for applying a voltage to the electrodes on the particulate sorting microchip is not particularly specified as far as direct-current or alternating-current voltage can be applied. By applying a voltage near the passage inlet (51), an electric field is generated, and an electric charge appears on the particulate surface by inductive polarization, and the particulate is driven. The magnitude of the generated charge differs with the electrode shape, and the shape may be selected so as to obtain the maximum gradient of nonuniform electric field as mentioned above. A similar phenomenon appears whether the voltage is direct-current or alternating-current, and with the direct-current voltage, superimposition

of dielectrophoresis and electrophoresis is observed, but with the alternating-current voltage, the electrophoresis force is averaged to be zero by inversion of electric field polarity, and only the dielectrophoresis free from effect of charge of particulate can be observed. It is hence preferred to apply alternating-current voltage. Such voltage application can be controlled by using a mechanism for controlling the on/off timing on the basis of the information about the particulate selected by the measuring means.

In the particulate sorting device of the invention, the output means for issuing optical or electrical information of particulates may include, for example, the software or monitor for imaging and analyzing the stereoscopic image or fluoroscopic image by the microscopic observation, or the monitor for observing the migrating mode of sample particulate (7) by voltage application. Other examples include frequency response measuring device (impedance analyzer), ion sensitive type field effective transistor (ISFET), voltmeter, ammeter, etc.

The particulate sorting device comprises at least these components (i) to (iv), and may also include storage tank for storing the particulate containing solution, storage tank for storing sheath solution, and liquid feeding means for feeding these solutions into the particulate sorting microchip. It may also include recovery tank for collecting the sorted particulates, or waste liquid tank. The particulate sorting device may have a plurality of particulate sorting microchips, and may be designed to repeat sorting operations in multiple stages in same condition or plural conditions.

The particulate measuring device of the invention can be downsized by reducing the size of measuring means, voltage application means, output means, and other components such as storage tanks by the known fine processing technology, and it may be used as handy tool for particulate sorting in the medical diagnosis and other field difficult to handle by the conventional cell sorter or particle analyzer. For example, when the analytical system of immune analysis device proposed by the present inventors (Japanese Patent Application No. 2000-131833) is constructed and linked on the particulate sorting

microchip of the invention, it is highly useful as analyzing and sorting system of cells of high precision.

The invention, using this particulate sorting device, presents a particulate sorting method for sorting particulates. Specifically, the particulate sorting method is characterized by feeding a solution containing sample particulates (7) through a feeding passage (2), forming a sheath flow to feed the particulates into a measuring position (4), measuring the particulates optically or electromagnetically, applying alternating-current voltage to electrodes (6), and guiding the particulates into the particulate sorting passage (5) by generated repulsive dielectrophoresis force, and sorting.

In the particulate sorting method of the invention, any particulates may be sorted. Those sorted by shape, size or properties may be preferred, and in particular those sorted by dielectrophoresis are desired, and specific examples are powder of high molecule, blood cells, culture cells, other cells, bacteria and microorganisms.

Embodiments of the invention are described below while referring to the accompanying drawing. The invention is not limited to these embodiments alone, but may be changed or modified in various forms.

[Embodiments] <Embodiment 1> Manufacture of particulate sorting microchip

A synthetic quartz wafer (11) of 20 mm square and 0.5 mm in thickness was cleaned for 10 min in HPM ($\text{HC1}:\text{H}_2\text{O}_2:\text{DW} = 1:1:4$, 60°C), rinsed in DW, cleaned for 10 min in DHF (concentration 10%), rinsed in DW, and cleaned in N_2 blow process, and Cr mask was deposited by $1.5\ \mu\text{m}$ by magnetron sputtering apparatus.

By photolithography (photo resist OMR-85: Tokyo Oka Kogyo, contact exposure machine: MJB3: Karl Zeus), and Cr wet etching ($\text{CeONH}_4)_2(\text{NO}_3)_6:\text{HClO}_4:\text{DW} = 65.8\text{ g}:$ 17.2 ml: 400 ml, room temperature), a capillary pattern was transferred on the mask, and the photo resist was processed by ashing by O_2 plasma (ICP = 500 W, pressure 40 mTorr, flow rate 100 sccm, processing time 2 min). It was then cleaned for 10 min in APN ($\text{NH}_4\text{OH}:\text{H}_2\text{O}_2:\text{H}_2\text{O} = 1:1:4$, 60°C), cleaned for 5 min in DHF (concentration 5C), rinsed

in DW, and cleaned by N₂ blow.

By dry etching (ICP = 500 W, substrate bias = 15 W, pressure 10 mTorr, creeping flow rate 200 sccm), a capillary groove was formed in quartz wafer, the Cr mask was removed by cleaning in SPW (H₂SO₄: H₂O₂ = 3: 1, boiling), cleaned for 10 min in HPW (HCl: H₂O₂: DW = 1: 1: 4, 60°C), rinsed in DW, cleaned for 5 min in DHF (concentration 5%), rinsed in DW, and processed by N₂ blow.

To form electrodes at both sides of the capillary, Cr mask was deposited by 0.1 µm by magnetron sputtering, the mask was matched by photolithography, and the electron patterns were transferred on the resist.

After Cr wet etching, the quartz glass dry etched by SF₆, and trenches for embedding electrodes were manufactured, and after removing the Cr mask, the resist was removed from the electrode embedding portions by mask matching by photolithography.

Finally, by magnetron sputtering, Cr and Pt were deposited sequentially, and after lifting off, it was adhered with another quartz glass having sample injection port and electrode terminal in 1% hydrofluoric acid, and taken out, and exposed to pressure of 1.3 MPa in atmosphere, and compression bonded.

<embodiment 2> Evaluation of operation of particulate sorting microchip

According to the procedure of embodiment 1, a particulate sorting microchip was manufactured by forming cell feeding passage (2), sheath flow forming passage (3), cell collecting passage (5b) enclosed by a pair of electrodes (6) positioned at the downstream side, and disposal passages (5a, 5c) at its both sides, on a substrate (1).

In this microchip, by forming the sheath flow, cells can be efficiently sent into the collection passage inlet (51b), and cells can be taken in or discarded by the repulsive dielectrophoresis power generated by application of alternating electric field to the electrodes.

The sample was sheep erythrocyte suspension solution refined by diluting to 1 × 10⁸/ml in phosphor buffer saline (PBS) at pH 7.4, and the inner wall of each passage of the

particulate sorting microchip was coated with gelatin by gelatin veronal buffer (GVB), and the operation of the microchip was evaluated.

While voltage was not applied to the electrodes, cells flow into the collecting passage (5b). In synchronism of the moment of cells reaching up to the collection inlet (51), applying alternating electric voltage of $V_{p-p}=20V$ and 1200kHz, cells repulse and are selectively taken into the discarding passages (5a, 5c) at both sides of the collecting passage (5b).

As confirmed by fluid simulation, the liquid flowing in the cell feeding passage is suppressed by the sheath flow at both sides, mostly flowing into the collecting passage inlet. It is also confirmed that the operation is stable in the discarding passages (5a, 5c) by extending wider than the region of increase of gradient of electric field generated around the electrodes (6).

Thus, when the particulate sorting microchip of the invention is applied in sorting of cells, cells receiving dielectrophoresis force are discharged, and cells not having the effect are sent into the collecting passage (5b), so that the cells can be collected without being damaged or stimulated.

It is thus verified that the particulate sorting microchip making use of repulse dielectrophoresis force can be applied in sorting of biological cells. By using this chip as the central technology, a cell sorting system having an advanced cell discriminating and processing system impossible in the conventional cell sorter can be realized, and the particulate sorting microchip of the invention seems to be very useful in the biological and medical research fields.

[Effects of the Invention]

As described specifically herein, the invention presents a particulate sorting microchip capable of sorting particulates easily and at high precision, and an inexpensive and highly versatile particulate sorting device using the same. The particulate sorting device of the invention can be reduced in size, and by using it, various particulates such as

cells, bacteria, microorganisms, and high molecular particulates can be easily sorted at high precision.

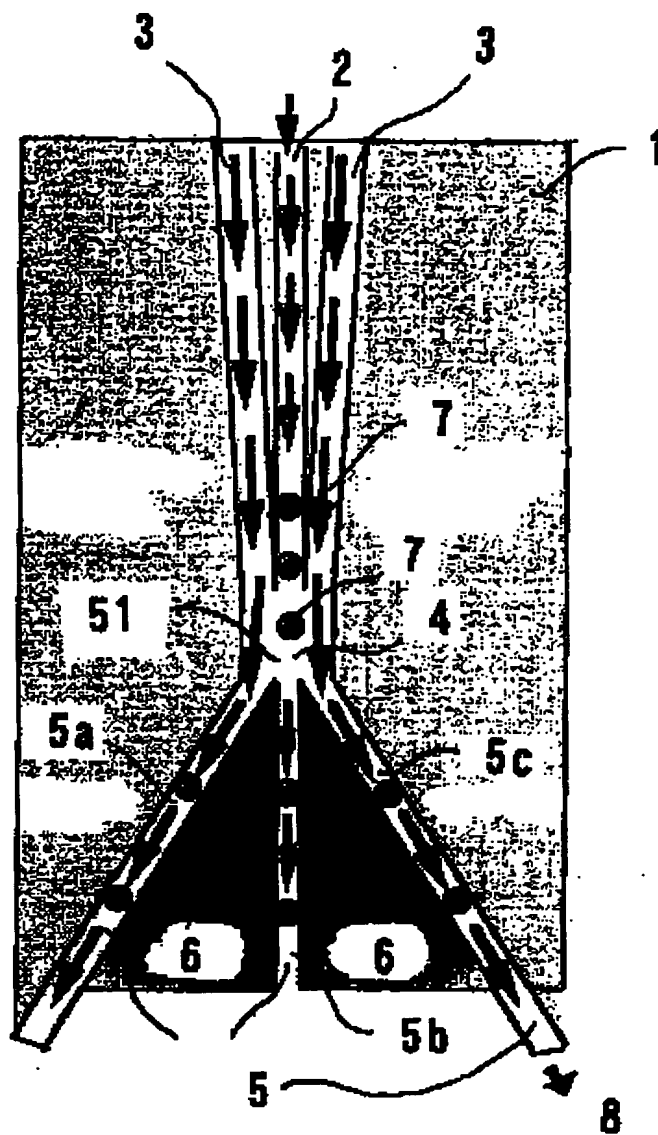
[Brief Description of the Drawing]

Fig. 1 is a schematic block diagram showing a particulate sorting microchip of the invention.

[Reference Numerals]

- 1** **Substrate**
- 2** **Particulate containing solution feeding passage, cell feeding passage**
- 3** **Sheath flow forming passage**
- 4** **Particulate measuring position**
- 5** **Particulate sorting passage**
- 5a** **Particulate sorting passage, discarding passage**
- 5b** **Particulate sorting passage, collecting passage**
- 5c** **Particulate sorting passage, discarding passage**
- 51** **Sorting passage inlet**
- 6** **Electrode**
- 7** **Sample particulate**
- 8** **Waste liquid tank**

Fig. 1



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2003-107099
(P2003-107099A)

(43) 公開日 平成15年4月9日 (2003. 4. 9)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード [*] (参考)
G 0 1 N 37/00	1 0 1	G 0 1 N 37/00	1 0 1 2 G 0 4 5
C 1 2 Q 1/02		C 1 2 Q 1/02	4 B 0 6 3
G 0 1 N 33/48		G 0 1 N 33/48	M

審査請求 未請求 請求項の数11 O L (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願2001-298580 (P2001-298580)

(22) 出願日 平成13年9月27日 (2001. 9. 27)

特許法第30条第1項適用申請有り 2001年3月28日
(社) 応用物理学会発行の「2001年 (平成13年) 春季
第48回応用物理学関係連合講演会 講演予稿集 第3分
冊」に発表

(71) 出願人 396020800
科学技術振興事業団
埼玉県川口市本町4丁目1番8号
(72) 発明者 一木 隆範
埼玉県鶴ヶ島市上広谷343-5-302
(72) 発明者 安田 賢二
東京都江東区潮見2-8-14-1014
(74) 代理人 100093230
弁理士 西澤 利夫

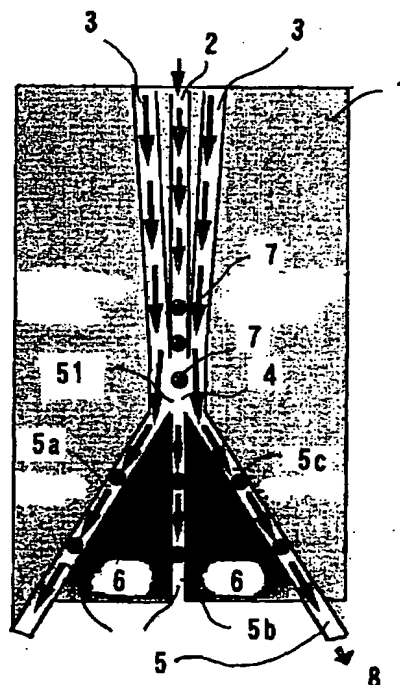
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 微粒子分別マイクロチップと微粒子分別装置

(57) 【要約】

【課題】 簡便に精度高く細胞等の微粒子を分別する方法と、安価で汎用性の高い微粒子分別装置を提供する。

【解決手段】 基板上に、少なくとも、微粒子含有溶液導入流路と、当該流路の少なくとも一方の側部に配置されたシース流形成流路と、導入された微粒子を計測するための微粒子計測部位と、該微粒子計測部位の下流に設置された微粒子を分別回収するための2以上の微粒子分別流路と、微粒子計測部位から微粒子分別流路への流路口付近に設置された微粒子の移動方向を制御するための2以上の電極を有する微粒子分別マイクロチップとする。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 基板上に微細な流路を有してなるフロー型微粒子分別マイクロチップであって、基板上に、少なくとも微粒子含有溶液導入流路と、当該流路の少なくとも一方の側部に配置されたシース流形成流路と、導入された微粒子を計測するための微粒子計測部位と、該微粒子計測部位の下流に設置された微粒子を分別回収するための2以上の微粒子分別流路と、微粒子計測部位から微粒子分別流路への流路口付近に設置された微粒子の移動方向を制御するための2以上の電極を有することを特徴とする微粒子分別マイクロチップ。

【請求項2】 微粒子計測部位は、微粒子含有溶液とシース流形成溶液が流入する1本の流路である請求項1の微粒子分別マイクロチップ。

【請求項3】 微粒子含有溶液導入流路、シース流形成流路、微粒子計測部位、および分別流路の内壁は、微粒子付着防止層により被服されている請求項1または2のいずれかの微粒子分別マイクロチップ。

【請求項4】 電極は、微粒子分別流路口付近に電界が集中するような形状および/または配置である請求項1ないし3のいずれかの微粒子分別マイクロチップ。

【請求項5】 微粒子含有溶液中の微粒子は、細胞、菌体、微生物、および高分子微粒子からなる群より選択される請求項1ないし4のいずれかの微粒子分別マイクロチップ。

【請求項6】 微粒子を分別するための微粒子分別装置であって、少なくとも請求項1ないし5のいずれかの微粒子分別マイクロチップと、微粒子分別マイクロチップ上の微粒子計測部位において微粒子を光学的または電磁気学的に計測する計測手段と、微粒子分別マイクロチップ上の電極に電圧を印加するための電圧印加手段と、微粒子の光学的または電気的情報を出力するための出力手段を有することを特徴とする微粒子分別装置。

【請求項7】 計測手段は、光学顕微鏡である請求項6の微粒子分別装置。

【請求項8】 計測手段は、蛍光顕微鏡である請求項6の微粒子分別装置。

【請求項9】 請求項6ないし8の微粒子分別装置を用いて、微粒子を分別する微粒子分別方法。

【請求項10】 微粒子を含有する溶液を導入流路より導入し、シース流を形成して該微粒子を計測部位へ導入し、微粒子を計測した後、電圧を印加して生じる電界と微粒子の相互作用により、該微粒子を微粒子分別流路に誘導して分別することを特徴とする微粒子分別方法。

【請求項11】 分別される微粒子は、細胞、菌体、微生物、および高分子微粒子からなる群より選択される請

求項9または10のいずれかの分別方法。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】 この出願の発明は、微粒子分別チップに関するものである。さらに詳しくは、この出願の発明は、微粒子や細胞を分別するためのマイクロチップとそれを内蔵した微粒子分別装置、さらには、微粒子や細胞を分別する方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術とその課題】 半導体産業における微細加工技術の発展により、シリコンやガラス基板上に作製されたマイクロチップが分析機器等において広く用いられるようになった。具体的には、液体クロマトグラフィーの電気化学検出器や医療現場における小型の電気化学センサーなどに、シリコンやガラス基板上に電極や流路などを構成した各種のマイクロチップが利用されている。

【0003】 近年、化学実験の高速化、高効率化、および集積化、あるいは、分析機器の超小型化を目指したmicro-total-analysis system (μ -TAS) やマイクロリアクターの作製・開発などが注目を浴びており、世界的に活発な研究が進められている。

【0004】 これらの μ -TASは、少量の試料で測定、分析が可能なること、持ち運びが可能となること、低コストが実現されること、使い捨てが可能なること、など、従来のデバイスに比べて優れている面が多々あり、とくに高価な試薬を使用する実験系や少量多検体の生化学物質のスクリーニング操作において有用性が高い方法として注目されている。

【0005】 また、 μ -TASは、微小空間における特異的な分子挙動を解明したり、超高感度検出、超微量分析を応用した単一分子や単一微粒子、あるいは単一細胞の分離、分析を可能にするものとして期待されている。

【0006】 一方、ヒトゲノム計画等により、膨大な遺伝子情報が明らかにされる中、ゲノム創薬などの製薬分野における大量多品種スクリーニング技術の重要性が高まっている。例えば、ヒト細胞に対する特定物質の影響を評価する場合には、各臓器培養細胞ライブラリを作成し、これらの培養細胞を分離・精製して品質を管理したり、物質投与後の各細胞を分別して状態を観察したりする。

【0007】 従来、このような細胞の分別には、セルソーターやパーティクルアナライザー等の細胞または微粒子分別装置が用いられている。しかし、従来のセルソーターは、大型で高価なため、実験室や医療現場で手軽に使用できるようなものではなかったのが実情である。また、散乱光や蛍光等の間接的情報に基づいて細胞を分別するため、操作に熟練を要し、汎用性が低いという問題もあった。さらに、セルソーターでは分別細胞を液滴化する必要があるため、分別できる細胞の大きさや種類が限定されるという問題もあった。一方、粉体や細胞等の

各種微粒子を大きさや形状に応じて分別する装置としてパーティクルアナライザーが知られているが、これも、装置が高価である、間接的な測定情報に基づいて分別を行うため汎用性が低い、等の問題点があった。

【0008】そこで、近年、層流中の微粒子を顕微鏡で直接観察しながら分別する安価なセルソーターが提案されている (Micro Total Analysis' 98, pp. 77-80 (Kluwer Academic Publishers, 1998); Analytical Chemistry, 70, pp. 1909-1915 (1998)) が、実際には分離部の要素技術が開発されているにすぎず、未だ実用化には至っていないのが実情である。

【0009】この出願の発明は、以上のとおりの事情に鑑みてなされたものであり、従来技術の問題点を解消し、簡便に精度高く細胞等の微粒子を分別する方法と、安価で汎用性の高い微粒子分別装置を提供することを課題としている。

【0010】

【課題を解決するための手段】この出願の発明は、上記の課題を解決するものとして、まず第1には、基板上に微細な流路を有してなるフロー型微粒子分別マイクロチップであって、基板上に、少なくとも、微粒子含有溶液導入流路と、当該流路の少なくとも一方の側部に配置されたシース流形成流路と、導入された微粒子を計測するための微粒子計測部位と、該微粒子計測部位の下流に設置された微粒子を分別回収するための2以上の微粒子分別流路と、微粒子計測部位から微粒子分別流路への流路口付近に設置された微粒子の移動方向を制御するための2以上の電極を有することを特徴とする微粒子分別マイクロチップを提供する。

【0011】第2には、この出願の発明は、微粒子計測部位が微粒子含有溶液とシース流形成溶液が流入する1本の流路である前記の微粒子分別マイクロチップを提供する。

【0012】さらに、第3には、この出願の発明は、微粒子含有溶液導入流路、シース流形成流路、微粒子計測部位、および分別流路の内壁が、微粒子付着防止層により被服されている前記いずれかの微粒子分別マイクロチップを提供する。

【0013】この出願の発明は、第4には、電極が微粒子分別流路口付近に電界が集中するような形状および／または配置となっている前記いずれかの微粒子分別マイクロチップを提供する。

【0014】さらに、第5には、この出願の発明は、微粒子含有溶液中の微粒子が、細胞、菌体、微生物、および高分子微粒子からなる群より選択されるものである前記いずれかの微粒子分別マイクロチップを提供する。

【0015】この出願の発明は、第6には、微粒子を分別するための微粒子分別装置であって、少なくとも、前記のいずれかの微粒子分別マイクロチップと、微粒子分別マイクロチップ上の微粒子計測部位において微粒子を

光学的または電磁気学的に計測する計測手段と、微粒子分別マイクロチップ上の電極に電圧を印加するための電圧印加手段と、微粒子の光学的または電気的情報を出力するための出力手段を有することを特徴とする微粒子分別装置を提供する。

【0016】この出願の発明は、また、第7には、計測手段が光学顕微鏡である前記の微粒子分別装置を、および第8には、計測手段が蛍光顕微鏡である前記いずれかの微粒子分別装置を提供する。

【0017】さらに、第9には、この出願の発明は、前記いずれかの微粒子分別装置を用いて、微粒子を分別する微粒子分別方法を提供する。

【0018】この出願の発明は、第10には、微粒子を含有する溶液を導入流路より導入し、シース流を形成して該微粒子を計測部位へ導入し、微粒子を計測した後、電圧を印加して生じる電界と微粒子との相互作用により、該微粒子を微粒子分別流路に誘導して分別することを特徴とする微粒子分別方法を提供する。

【0019】そして、この出願の発明は、第11には、分別される微粒子が細胞、菌体、微生物、および高分子微粒子からなる群より選択される前記いずれかの分別方法をも提供する。

【0020】

【発明の実施の形態】この出願の発明は、まず、基板上に微細な流路を有してなるフロー型微粒子分別マイクロチップに関するものである。図1にこの微粒子分別マイクロチップの概要を示した。この出願の発明の微粒子分別マイクロチップは、基板(1)上に、少なくとも、

(a) 微粒子含有溶液導入流路(2)と、(b) 当該流路の側部に配置されたシース流形成流路(3)と、

(c) 導入された微粒子を計測するための微粒子計測部位(4)と、(d) 該微粒子計測部位(4)の下流に設置された微粒子を分別回収するための2以上の微粒子分別流路(5)と、(e) 微粒子計測部位(4)から微粒子分別流路(5)への流路口(51)付近に設置された微粒子の移動方向を制御するための2以上の電極(6)を有することを特徴とする。このとき、基板(1)は、各種の微細加工技術により微細流路や電極を加工、設置できるものであればよく、シリコン、ガラス、石英、プラスチック等各種のものから選択できる。例えば微粒子を光学的手段により計測する場合には、使用する光源の波長領域に吸収を持たない材質を選択する。このような基板(1)の大きさはとくに限定されず、少なくとも上記(a)～(e)の構成部を、分別する細胞等の微粒子の大きさや種類に応じて微細加工できる程度の大きさであればよい。

【0021】この出願の発明の微粒子分別マイクロチップにおいて、微粒子含有溶液導入流路(2)は、培養細胞や血液細胞、高分子粉体等の試料微粒子(7)を含有する溶液を導入するための流路であり、その上流には、

微粒子含有溶液を貯蔵するタンクやポンプ等の送液手段に接続するためのコネクタ部位を有していてもよい。このようなマイクロチップにおいて、微粒子含有溶液導入流路(2)の内径はとくに限定されない。試料微粒子

(7)を安定に導入できる径を有していればよく、例えば、幅約1~100 μm 程度とすることができる。形状もとくに限定されないが、矩型であれば、公知の半導体微細加工技術等により容易に形成でき、後述の顕微鏡観察等を行う際にも像の歪みが生じないため好ましい。

【0022】また、シース流形成流路(3)は、試料微粒子(7)が微粒子計測部位(4)に導入される際に、試料微粒子(7)の両側を包むような流れ(シース流)を形成するための液(シース液)を導入するための流路であり、前記微粒子含有溶液導入流路(2)の一方の側部、または両方の側部に配置されていればよい。シース流形成流路(3)の内径もとくに限定されないが、例えば、幅約1~100 μm とすることができる。シース流が形成されるように、微粒子含有溶液導入流路(2)とシース流形成流路(3)の径を設計するか、微粒子含有溶液の流量とシース溶液の流量を調整する。

【0023】また、この出願の発明の微粒子分別マイクロチップにおいて、微粒子計測部位(4)は、微粒子を光学的または電磁気学的に計測するための部位である。具体的には、例えば試料微粒子(7)に顕微光学計測系より特定波長領域の光を照射し、試料微粒子(7)の実体像や蛍光像を観察するための部位である。あるいは、試料微粒子(7)の移動速度や泳動速度をCCDカメラ等により観察するための部位としてもよい。さらには、微粒子計測部位(4)に2組以上の微小電極を組み込み、電極間に100mV程度の低い交流電圧を印加し、電極間に流れるインピーダンスを計測してもよい。このような微粒子計測部位(4)では、前記の微粒子含有溶液導入流路(2)とシース流形成流路(3)から各溶液が流入し、試料微粒子が導入される。したがって、微粒子計測部位(4)は、前記の微粒子含有溶液導入流路(2)とシース流形成流路(3)が合流した1本の流路であることが望ましく、その場合、これらよりも大きな径、例えば、幅約5~150 μm とすることが好ましい。なお、各流路の高さもとくに限定されない。ただし、チップの底面あるいは上部面から流路までの距離(厚さ)については、微粒子や細胞内の微細構造を顕微鏡で観察する場合、レンズの焦点距離との関係から50~500 μm 程度にまで薄くする必要がある。

【0024】さらに、この出願の発明の微粒子分別マイクロチップは、前記微粒子計測部位(4)の下流に設置された微粒子を分別回収するための2以上の微粒子分別流路(5)を有するものである。このような微粒子分別流路(5)は、分別する微粒子の種類に応じて数を増加できる。また、微粒子分別流路(5)には、1以上の廃液用の流路が含まれていてもよい。

【0025】以上のとおりの微粒子含有溶液導入流路(2)、シース流形成流路(3)、微粒子計測部位(4)、および分別流路(5)は、基板(1)をフォトリソグラフィ等の半導体微細加工技術によって加工した状態のまま使用してもよいが、試料微粒子によっては、これらの流路の内壁に付着しやすく、流路の壁面と中央部での微粒子の移動速度に大きな差が生じるものもあるため、微粒子付着防止層を形成することが好ましい。具体的には、ゲラチンやポリエチレングリコールなどの高分子を被服し、微粒子付着防止層とすることができ。

【0026】この出願の発明の微粒子分別マイクロチップは、また、微粒子計測部位(4)から微粒子分別流路(5)への流路口(51)付近に設置された微粒子の移動方向を制御するための2以上の電極(6)を有するものである。このような電極(6)は、電圧を印加することにより流路口(51)付近に電界を生じさせ、その電界と微粒子との相互作用により流路口(51)への微粒子の流入を制御するためのものである。電極(6)の形状や大きさはとくに限定されないが、好ましくは、流路口(51)付近に電界を集中させたり、不均一電界の勾配を最大にしたりできるように、図1に示されるような鋭角な形状を有するものとする。また、電極(6)材料は、金、銀、白金、Al等各種の一般的な電極材料から適宜選択される。電極(6)の数は、電界を生じるためには少なくとも1対(2個)必要であるが、微粒子分別流路(5)の数に応じて増加できる。これらの電極(6)への電圧の印加は個別に制御できるようにすれば、各流路口(51)への流入の可・不可を各々制御できる。

【0027】以上のとおりの微粒子分別マイクロチップは、どのような方法で製造されるものであってもよいが、半導体リソグラフィ、エッチングをはじめとする公知の各種微細加工技術によって容易に製造できるものである。

【0028】この出願の発明は、さらに、微粒子を分別するための微粒子分別装置をも提供する。このような微粒子分別装置は、少なくとも、(i)前記の微粒子分別マイクロチップと、(ii)微粒子分別マイクロチップ上の微粒子計測部位において微粒子を光学的あるいは電磁気学的に計測する計測手段と、(iii)微粒子分別マイクロチップ上の電極に電圧を印加するための電圧印加手段と、(iv)微粒子の光学的または電気的情報を出力するための出力手段を有することを特徴とするものである。

【0029】この出願の発明の微粒子分別装置において、微粒子分別マイクロチップ上の微粒子計測部位において微粒子を光学的あるいは電磁気学的に計測する計測手段としては、前述の顕微光学計測系やCCDカメラが例示される。例えば、顕微光学計測系を用いる場合に

は、試料微粒子(7)に特定波長領域の光を照射し、照射光と同一波長で試料微粒子(7)の実体像を観察できる。また、より長波長領域で試料微粒子(7)の蛍光像を観察してもよく、実体像と蛍光像を比較するための機能や画像処理機能を有するものとしてもよい。一方、計測手段としてCCDカメラを用いれば、試料微粒子

(7)の移動速度や泳動速度を観察できる。これにより、電圧印加による試料微粒子(7)の泳動速度への影響を測定したり、分離タイミングを決定したりできる。もちろん、計測手段は、これら以外のもの、例えば半導体レーザーを照射し、通過光をフォトダイオードで計測する手段等であってもよい。

【0030】この出願の発明の微粒子分別装置において、微粒子分別マイクロチップ上の電極に電圧を印加するための電圧印加手段は、直流・交流の電圧を印加できるものであればよい。流路口(51)付近に電圧を印加することにより、電界が生じると、微粒子表面に誘電分極により電荷が現れ、微粒子が駆動される。生じる電界の大きさは、電極形状によって異なるため、前記のとおり、不均一電界の勾配が最大となるような形状を選択すればよい。また、電圧は直流でも交流でも同様の現象が見られるが、直流電圧では、誘電泳動と電気泳動の重畳が観察されるのに対し、交流電圧では、電界極性の反転により電気泳動力が平均して0となるため、微粒子の電荷によらない誘電泳動のみが観察される。したがって、交流電圧を印加することが好ましい。さらに、このような電圧は、前記の計測手段によって選ばれた微粒子に関する情報をもとにオン/オフのタイミングを制御できる機構を設け、電圧の印加を制御してもよい。

【0031】また、微粒子の光学的または電気的情報を出力するための出力手段としては、前記のとおり顕微鏡観察による実体像や蛍光像を画像化、解析するためのソフトやモニター、あるいは電圧印加による試料微粒子(7)の泳動の様子を観察するためのモニター等が例示される。さらには、周波数応答測定装置(インピーダンスアナライザー)や、イオン感応型電界効果型トランジスター(ISFET)、電圧計、電流計等が例示される。

【0032】以上のとおりの微粒子分別装置は、少なくとも上記の(i)~(iv)を有していればよいが、その他にも、微粒子含有溶液を貯蔵するための貯蔵槽やシース溶液を貯蔵するための貯蔵槽、さらにはこれらの溶液を微粒子分別マイクロチップに導入するための送液手段等を有していてもよい。また、分別された微粒子を回収するための回収槽や廃液槽等を有していてもよい。さらに、このような微粒子分別装置は、前記の微粒子分別マイクロチップを複数有し、同条件あるいは複数条件で多段階に分別操作を繰り返すことのできるものであってもよい。

【0033】また、この出願の発明の微粒子分別装置においては、公知の微細加工技術により、計測手段、電圧

印加手段、出力手段、さらには各貯蔵槽等の各構成部位を微細化することにより、超小型化が可能となり、従来のセルソーターやパーティクルアナライザーでは困難であった医療診断等の現場での微粒子分別を手軽に行うことができるようになる。例えば、この出願の発明者らによって報告されている免疫分析装置(特願2000-131833)等の分析系を、この出願の発明の微粒子分別マイクロチップ上に構築し、連結させれば、精度高い細胞の分析・分別システムとしての有用性も高くなる。

【0034】この出願の発明では、以上のとおりの微粒子分別装置を用いて、微粒子を分別する微粒子分別方法をも提供する。具体的には、例えば、試料微粒子(7)を含有する溶液を導入流路(2)より導入し、シース流を形成して該微粒子を計測部位(4)へ導入し、微粒子を光学的または電磁気学的に計測した後、電極(6)に交流電圧を印加し、生じる反発性誘電泳動力により、該微粒子を微粒子分別流路(5)に誘導して分別する微粒子分別方法が挙げられる。

【0035】以上のとおりのこの出願の発明の微粒子分別方法において、分別される微粒子は、どのようなものであってもよい。形状、大きさ、性質等によって分別できるもの、とくに誘電泳動により分別できるものであればよく、具体的には、高分子等の粉体、血液細胞や培養細胞等の細胞、あるいは菌体や微生物が例示される。

【0036】以下、添付した図面に沿って実施例を示し、この発明の実施の形態についてさらに詳しく説明する。もちろん、この発明は以下の例に限定されるものではなく、細部については様々な態様が可能であることは言うまでもない。

【0037】

【実施例】<実施例1> 微粒子分別マイクロチップの作成

20mm角、厚さ0.5mmの合成石英ウェファ(11)をHPM(HCl:H₂O₂:DW=1:1:4、60℃)洗浄10分、DWリンス、DHF(濃度10%)洗浄10分、DWリンス、N₂ブローの工程で洗浄し、マグネトロンスパッタ装置によってCrマスクを1.5μm堆積させた。

【0038】次にフォトリソグラフィー(フォトレジストOMR-85:東京応化工業、コンタクト露光機:MJB3:カールズース)、Crのウェットエッチング(Ce(NH₄)₂(NO₃)₆:HClO₄:DW=65.8g:17.2ml:400ml、室温)によってキャピラリーパターンをマスク上に転写し、O₂プラズマ(ICP=500W、圧力40mTorr、流量100sccm、処理時間2分)でフォトレジストをアッシング処理した。その後、APM(NH₄OH:H₂O₂:H₂O=1:1:4、60℃)洗浄10分、DHF(濃度5%)洗浄5分、DWリンス、N₂ブローによって洗浄した。

【0039】次に、ドライエッチング(ICP=500W、Substrate bias=15W、圧力10mTorr、沿う流量200sccm)により石英ウェファにキャピラリー溝を形成し、Crマスクを

SPM ($\text{H}_2\text{SO}_4:\text{H}_2\text{O}_2=3:1$ 、煮沸)洗浄で除去し、HPM ($\text{HCl}:\text{H}_2\text{O}_2:\text{DW}=1:1:4$ 、 60°C)洗浄10分、DWリンス、DHF (濃度5%)洗浄5分、DWリンス、 N_2 ブローで処理した。

【0040】キャピラリーの両側に電極を設けるために、マグネトロンスパッタによってCrマスクを $0.1\mu\text{m}$ 堆積させ、フォトリソグラフィによるマスク合わせをして電極パターンをレジストに転写した。

【0041】Crのウェットエッチング後、 SF_6 による石英ガラスのドライエッチングを行い、電極埋め込み用のトレンチを作製し、Crマスクを除去後、フォトリソグラフィによるマスク合わせによって電極埋め込み部分のレジストを除去した。

【0042】最後にマグネトロンスパッタによってCr、Ptの順に堆積し、リフトオフを行った後、試料注入口と電極のターミナルを設けたもう1枚の石英ガラスと1%フッ酸中で貼り合わせ、取り出し、大気中で1.3MPaの圧力をかけて圧着接合した。

＜実施例2＞ 微粒子分別マイクロチップの動作評価
実施例1の手順に従い、図1のように、基板(1)上に細胞導入用流路(2)とシース流形成流路(3)、その下流に位置する一対の電極(6)に挟まれた細胞収集用流路(5b)とその両側の廃棄用流路(5a、5c)を有する微粒子分別マイクロチップを作製した。

【0043】このマイクロチップでは、シース流を形成することにより、細胞を効率よく収集用流路口(51b)に送り込み、電極に交番電界を印加して生じる反発性誘電泳動力により、細胞の取り込みを取捨する。

【0044】pH7.4のリン酸希釈生理食塩水(PBS)で $1 \times 10^8/\text{ml}$ に希釈、精製した羊赤血球浮遊溶液を試料とし、微粒子分別マイクロチップの各流路の内壁を、ゲラチンペロナル緩衝液(GVB)によってゲラチンで被覆してこのマイクロチップの動作を確認した。

【0045】電極に電圧を印加しない場合には、細胞は収集用経路(5b)へと流れ込む。しかし、細胞が収集口付近(51)に達する瞬間に同期して、 $V_p-p=20\text{V}$ 、1200kHzの交番電圧を印加したところ、細胞が反発し、収集用流路(5b)の両側にある廃棄用流路(5a、5c)へと選択的に送り込まれた。

【0046】また、流体シミュレーションにより、細胞導入流路を流れる液体が両脇のシース流によって抑えられ、そのほとんどが収集用流路口へと流れていることが

確認された。さらに、廃棄用流路(5a、5c)は、電極(6)の周囲に生じる電界の勾配が大きくなる領域よりも広くすることにより動作が安定することが確認された。

【0047】これより、本願発明の微粒子分別マイクロチップを細胞の分別に適用することにより、誘電泳動力を受けた細胞が廃棄され、影響を受けない細胞が収集用流路(5b)に取り込まれ、細胞に損傷や刺激を与えずに収集することが可能となる。

【0048】以上より、反発性の誘電泳動力を利用した微粒子分別マイクロチップが生体細胞の分別に利用できることが示された。また、このチップを中核技術とすることにより、従来のセルソーターでは不可能であった高度な細胞判定処理系をもつ細胞分収システムが実現されることから、本願発明の微粒子分別マイクロチップは、生物学や医学の研究の場において有用性が高いといえる。

【0049】

【発明の効果】以上詳しく説明したとおり、この発明によって、簡便で精度高い微粒子を分別可能とする微粒子分別マイクロチップと、それを有する安価で汎用性の高い微粒子分別装置が提供される。この発明の微粒子分別装置は、超小型化が可能であり、これを用いることにより、細胞、菌体、微生物、高分子微粒子などの各種微粒子を精度高く簡便に分別することが可能となる。

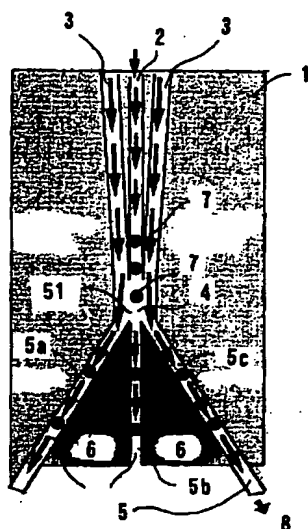
【図面の簡単な説明】

【図1】この発明の微粒子分別マイクロチップを例示した概略模式図である。

【符号の説明】

- 1 基板
- 2 微粒子含有溶液導入流路、細胞導入流路
- 3 シース流形成流路
- 4 微粒子計測部位
- 5 微粒子分別流路
- 5a 微粒子分別流路、廃棄用流路
- 5b 微粒子分別流路、収集用流路
- 5c 微粒子分別流路、廃棄用流路
- 51 分別流路口
- 6 電極
- 7 試料微粒子
- 8 廃液槽

【図1】



フロントページの続き

Fターム(参考) 2G045 AA02 AA24 AA28 BB13 CA01
 CB01 CB21 FA11 FA16 FA34
 FA36 FA37 FB04 HA02 HA14
 4B063 QA05 QQ05 QQ08 QR74 QR77
 QS39 QX01 QX04